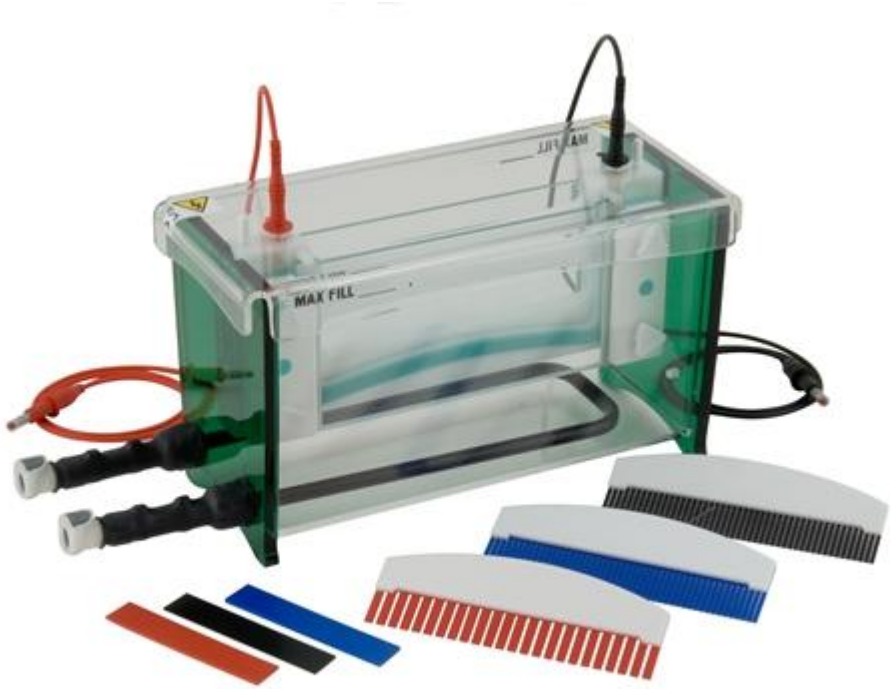
УРАЛЬСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
Имени первого Президента России Б. Н. Ельцина
ИНСТИТУТ ЕСТЕССТВЕННЫХ НАУК

Департамент «БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ»
Кафедра физиологии и биохимии растений

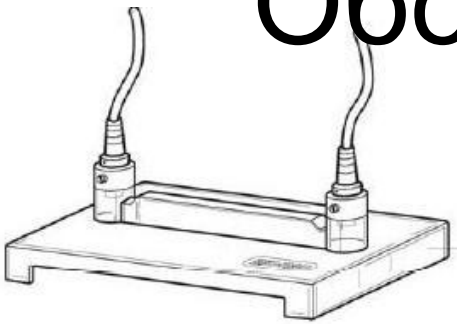
Вертикальный электрофорез



Выполнила:
Клинова Светлана,
магистрант 1 года

Екатеринбург, 2014

Оборудование

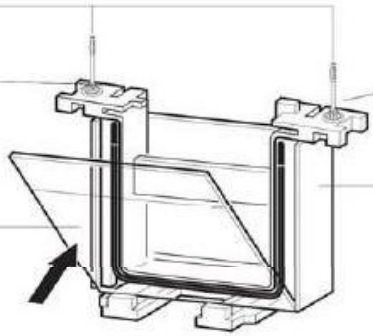


Крышка

Токоподводящие разъёмы

Анод (красный)

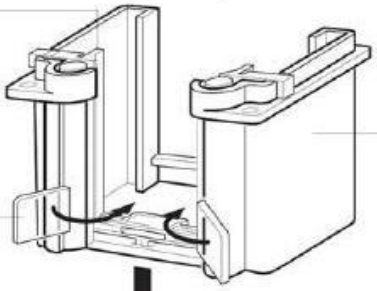
Катод (чёрный)



Электродный модуль

Гель, между стеклянными пластинами

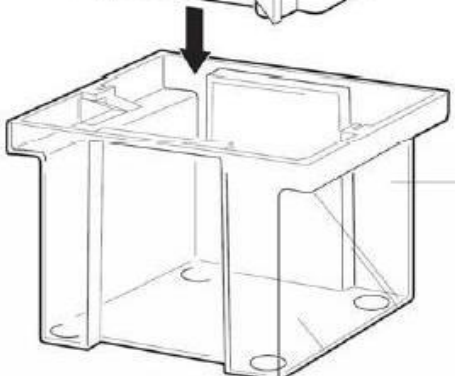
Прижимная пластина



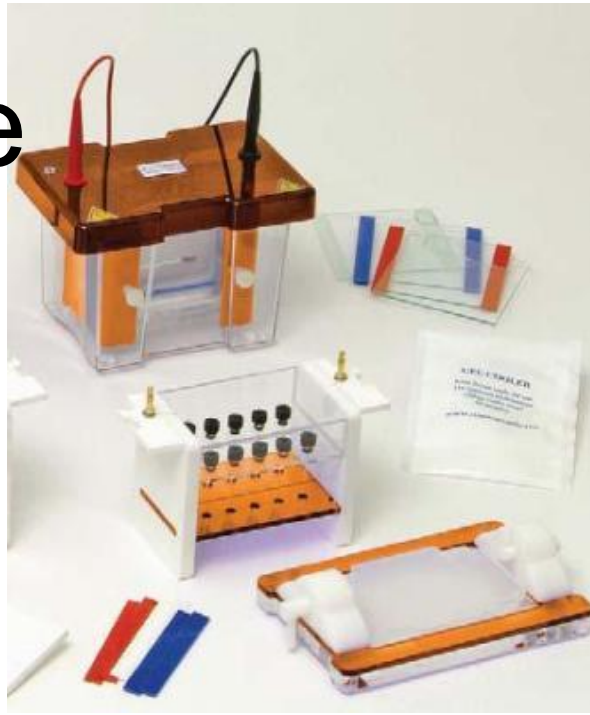
Штатив для электродного блока

Внутренний блок камеры

Зажим



Ёмкость для электродного буфера



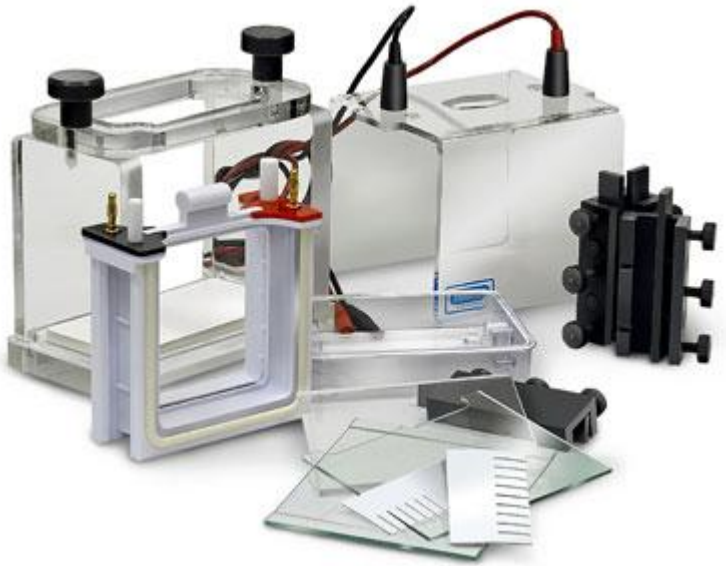
Гель

Таблица I. Диапазон эффективного разделения белков в ДДС-Na-ПААГ в зависимости от концентрации геля.

Разделяющий Гель, %T	**примерный диапазон молекулярных масс (Да)**
7.5%	45 000 – 200 000
10%	25 000 – 200 000
12%	14 400 – 120 000
15%	6 500 – 100 000
Градиент %T	
4–15%	20 000 – 200 000
4–20%	6 500 – 200 000
10–20%	6 500 – 120 000

ПААГ:

- ✔ Вода
- ✔ Буфер
- ✔ Акриламид
- ✔ Бис-акриламид
- ✔ ПСА
- ✔ ТЕМЕД



Буфер

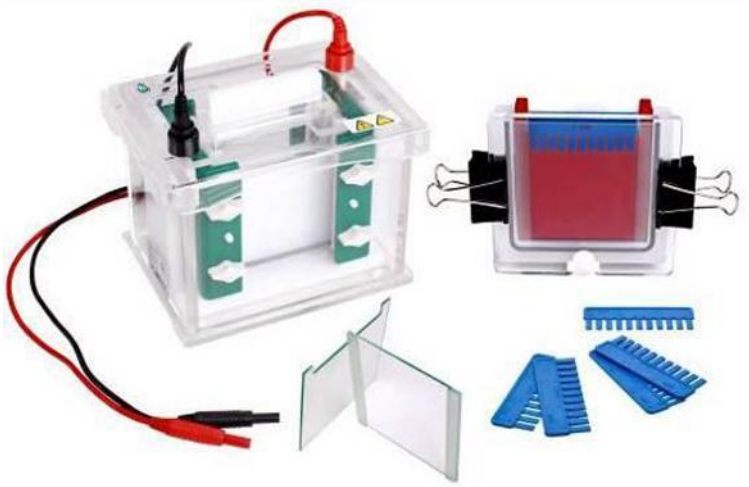
Таблица III. Приготовление 5х электродного буфера.

pH	Щелочная составляющая	в 5х растворе	Кислотная составляющая	в 5х растворе
3.8	β-аланин (M_r 89.09)	13.36 г/л	85% раствор молочной кислоты	7.45 мл/л
4.4	β-аланин (M_r 89.09)	35.64 г/л	17.4 М Уксусная кислота	11.5 мл/л
4.8	GABA (M_r 103.1)	41.24 г/л	17.4 М Уксусная кислота	5.75 мл/л
6.1	гистидин (M_r 155.2)	23.28 г/л	MES (M_r 195.2)	29.5 г/л
6.6	гистидин (M_r 155.2)	19.4 г/л	MOPS (M_r 209.3)	31.4 г/л
7.4	имидазол (M_r 68.08)	14.64 г/л	HEPES (M_r 238.33)	41.7 г/л
8.1	Трис (M_r 121.14)	19.38 г/л	EPPS (M_r 252.2)	37.85 г/л
8.7	Трис (M_r 121.14)	30.29 г/л	Борная кислота (M_r 61.83)	7.73 г/л
9.4	Трис (M_r 121.14)	36.34 г/л	CAPS (M_r 221.3)	44.26 г/л
10.2	Аммиак (14.8 М)	12.5 мл/л	CAPS (M_r 221.3)	22.13 г/л

Трис-глициновый буфер 10х
30,3 г Трис
144,0 г глицина
10,0 ДДС-Na
Довести водой до 1 л

Последовательность действий

1. Подготовить образцы
2. Зафиксировать стеклянные пластины
3. Приготовить раствор мономеров для геля (акриламид, бис-акриламид) без добавления ТЕМЕД и ПСА.
4. Провести дегазацию под вакуумом в течение 15 мин.
5. После окончания дегазации добавить в раствор ТЕМЕД и ПСА.
6. Аккуратно размешать получившийся раствор
7. Залить гель между стеклами до верхнего края покровного стекла
8. Вставить гребенку между спейсерами, плавно вдвигая ее от верхнего края стекла
9. Оставить гель на 30-40 мин для полимеризации
10. Переместить гель вместе со
11. Залить электродный буфер
12. Аккуратно извлечь гребенку
13. Промыть карманы буфером или дистиллированной водой
14. Внести образцы
15. Закрыть камеру и подключить ее к источнику тока



Список использованных источников и литературы:

1. Курашвили Л.В., Бобылева Л.Н. Определение триглицеридов во фракции липопротеидов высокой плотности /Лабораторное дело. - N 7. - 1991. - С.7576.
2. Курашвили Л.В., Владимирова А.А. Содержание триглицеридов в ЛПВП у больных ишемической болезнью сердца //Кардиология. - 7-8. - 1992. - С.35-38.
3. Курашвили Л.В., Волков А.С. Прогностическая значимость определения холестерина в фракции липопротеидов высокой плотности у доноров крови // Гематология и трансфузиология. - N 5. - 1993. - С.39-41.
4. Полиакриламидный гель (ПААГ). – URL: http://knowledge.allbest.ru/biology/3c0a65625a3ad68a5c53a89421216d37_0.html
5. Поляничко А.М. Вертикальный электрофорез в ПААГ (методическое пособие)// СПбГУ. – 2007. – с. 1-72
6. Учебный портал РУДН. – URL: http://web-local.rudn.ru/web-local/prep/rj/index.php?id=1907&p=26854

Спасибо за внимание!